

억새즙액 배지를 이용한 *Bacillus lentimorbus* G-74 균주의 배양 최적화

강선철* · 서해정

대구대학교 식품생명화학공학부
(2004년 2월 10일 접수, 2004년 3월 12일 수리)

Culture Optimization for *Bacillus lentimorbus* G-74 by Using a *Miscanthus purpurascens* Juice Medium

Sun-Chul Kang* and Hae-Jeong Seo (Division of Food, Biological and Chemical Engineering, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea)

ABSTRACT : *Miscanthus purpurascens* juice containing potassium (37,952 mg/L), nitrogen (14,000 mg/L), phosphorus (6,800 mg/L), magnesium (5,969 mg/L), calcium (5,910 mg/L), etc., was investigated to develop a novel medium for the mass cultivation of useful microorganisms. For this research, we first isolated an antagonistic bacterium G-74 from soil, which showed strong growth inhibition against two phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea*, and identified as *Bacillus lentimorbus* G-74 based on the morphological characteristics and MIDI analysis. Culture conditions for G-74 strain in the *M. purpurascens* juice medium were optimized. Dilution rate of the medium, temperature and initial pH for the optimum growth of G-74 strain were 30% (V/V), 35°C and 5.0, respectively. It was found that additions of 2.0% (W/V) corn starch as a carbon source and 1.0% (W/V) yeast extract as a nitrogen source in this medium increased *B. lentimorbus* G-74 growth to 66% more efficient than Luria Bertani medium.

Key words: *Miscanthus purpurascens* juice medium, antagonistic bacterium, *Bacillus lentimorbus* G-74, MIDI analysis.

서 론

진균감염에 의해 발생하는 농작물의 피해는 약 15~20%를 차지하며, 병해의 70~80%를 차지한다¹⁾. 이들 진균은 대부분 토양에 존재하며 식물과의 직접적인 접촉, 혹은 이미 감염된 식물의 종자를 통해 감염된다. 식물병원균의 방제법으로는 토양에 존재하는 진균을 훈증을 통하여 살균하는 방법, 종자감염을 방지하기 위한 종자소독법, 길항미생물을 이용하는 생물학적 방제법, 식물에 직접 살균제를 살포하여 감염을 예방하거나 치료하는 방법 등이 있지만 살균제의 살포가 가장 보편화 되어 있다²⁻⁴⁾. 화학농약으로 주로 사용되는 benzimidazole계와 dicarboximide계 등의 대부분의 살균제는 유기합성에 의해 제조되며, 비대상 생물에 대한 약해가 심하고, 또한 방제 후에도 잘 분해되지 않고 토양에 오래 잔류하기 때문에 환경오염과 토양오염의 중요한 원인이 되고 있다⁵⁾. 최근에는 오랜

사용으로 인한 내성균주들의 출현이 보고되고 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 개발된 가장 효과적인 방제법은 길항미생물 혹은 이들이 생성하는 항생물질을 이용하는 생물학적 방제법이다^{2,6,7)}.

항진균물질 생성에 의해 식물병원성 곰팡이의 성장을 저해하는 길항균은 다양한 미생물에서 관찰되어졌다. 현재까지 알려진 바로는 항생물질을 생성하는 길항미생물의 종류로는 방선균이 가장 많으며 그 밖에 곰팡이, 세균 등에서도 일부 발견되고 있다⁸⁾.

사철식물인 억새(*Miscanthus purpurascens*)는 C₄ 광합성을 하는 뿌리줄기형의 다년생 잡초로서 억새과에 속한다. 억새는 열대 지방과 아열대 지방에서 기원되나 동아시아에서 넓게 분포하여 발견된다. 이것은 1930년대에 유럽에서 최초로 경작되었으며, 이 후 일본을 거쳐 국내에 소개되었다^{9,10)}.

본 연구에서는 주변에서 쉽게 구할 수 있는 억새를 유용미생물을 생산할 수 있는 경제적 배지로 개발하기 위한 연구의 일환으로 먼저 유용미생물로서 식물병원성균에 대하여 강력한 길항력이 있는 토양미생물 G-74 균을 선발하였으며, 이 균에 대하여 형태관찰 및 MIDI 분석을 통하여 동정하였다¹¹⁾.

*연락처:

Tel: +82-53-850-6553 Fax: +82-53-850-6559
E-mail: sckang@daegu.ac.kr

또한 이 균주를 플라스크 배양하여 역새즙액 배지의 최적농도, 최적온도, 최적 초기 pH를 결정하였다. 그리고 결정된 최적 배지에 다양한 탄소원과 질소원을 추가적으로 첨가하여 가장 효율적인 배지를 완성함으로써 역새즙액 배지의 이용효율성을 극대화하고자 하였다^{12,13}.

재료 및 방법

공시균주 및 배지

실험에 사용한 공시균주는 길항미생물의 항균력을 검정하기 위하여 식물병원성균인 뿌리썩음병 원인균인 *Rhizoctonia solani*, 잿빛곰팡이병을 일으키는 *Botrytis cinerea*를 사용하였다. 이들 식물병원성 균주들은 PDA (potato dextrose agar: potatoes infusion 200 g, dextrose 20 g, agar 15 g, 증류수 1 L) 배지에서 *R. solani*는 37°C, *B. cinerea*는 25°C에서 배양하여 유지하였다.

길항미생물은 식물병원성균에 대하여 뛰어난 항균효과를 보이는 균주를 본 연구팀이 토양으로부터 순수분리한 세균 G-74 균주를 사용하였다. 길항균에 대한 배지로는 본 연구를 통하여 개발한 역새즙액 배지 혹은 대조구로서 시험한 LB (Luria Bertani: tryptone 10 g, yeast extract 5 g, sodium chloride 10 g, 증류수 1 L, pH 6.5) 배지를 사용하였다.

식물병원성균에 대한 길항균의 분리동정

선발된 길항균 G-74의 동정을 위하여 Gram 염색 후 광학 현미경하에서 형태관찰을 수행하였으며, 동시에 미생물 신속 동정기(MIDI Sherlock MIS system, HP 6890 Series GC System, USA)를 이용하여 속과 종을 결정하였다. MIDI 분석을 통한 정확한 분류학적 동정을 위해서 분리균주를 TSA배지 (trypton 17 g, soytone 3 g, dextrose 2.5 g, sodium chloride 5g, dipotassium phosphate 2.5 g, agar 15 g, 증류수 1 L, pH 6.5), 28°C에서 배양하여 균체를 모은 다음 세포막의 지방산을 추출하였다. 세포막의 지방산 구성성분은 GC로 분석하였으며, 각각의 peak로부터 지방산의 양과 종류를 확인한 후 Sherlock software를 사용하여 비교분석 및 통계적 처리로 동정하였다¹¹.

식물병원성균에 대한 길항미생물의 항균력 시험

식물병원성균 *R. solani* 및 *B. cinerea*에 대한 길항미생물 G-74의 항균력을 검정하기 위하여 PDA 배지를 분주한 petri dish(Φ 89 mm)의 오른쪽에 전배양한 길항미생물의 균총(Φ 1 mm)을 접종하고 여기서부터 왼쪽으로 2 cm 떨어진 곳에 각각 식물병원성균 *R. solani* 및 *B. cinerea*의 균총(Φ 5 mm)을 접종하여 25°C에서 4~5일간 배양한 후 식물병원성 진균의 균사가 성장하지 못한 정도로서 항균력의 효과를 검정하였다.

역새즙액 배지제조 및 성분분석

채취된 역새(*Miscanthus purpurascens*)는 건조되기 전에 곧바로 녹즙기(Angel Life, NA-6008, Korea)로 마쇄한 다음 거즈로 고형물을 3회에 걸쳐 제거한 후 Whatman No. 1 여과

지로 여과하여 미세침전물을 제거하였다. 마지막으로 여과액을 80°C에서 30분간 가열하여 새로 생성되는 침전물을 동일한 필터페이퍼로 재여과하여 역새즙액배지를 제조하였다. 이와 같이 제조된 배지는 액체배지로서 사용 전까지 -20°C에서 냉동 보관하였으며, 필요시 해동하여 121°C에서 15분간 멸균한 후 사용하였다. 고체배지는 역새즙액 배지에 1.5%의 agar만을 첨가하여 멸균 제조하였다.

역새즙액 배지의 성분분석은 식품공전의 방법에 따라 분석하였는데¹⁴, 동결 건조한 시료 1 g을 취하여 회화시킨 후, 1 N HCl을 이용하여 건식회화법으로 분해시킨 후 여과하고 증류수로 100 mL 정용하여 시험용액으로 하였다. 역새의 각 무기성분 정량은 유도 결합 플라즈마 방출 분광법인 ICP spectrometer (Varian, Model Liberty Series II, Mulgrave, Australia)를 이용하여 분석하였다¹⁵.

역새즙액 배지를 이용한 G-74 균체배양

역새즙액 배지의 길항균 G-74 균주에 대한 배지로서의 이용가능성을 시험하기 위하여 100 mL 삼각플라스크에 역새즙액을 증류수로 희석하여 각각 10, 30, 50, 100% (V/V)의 다양한 농도로 준비하여 30 mL씩 분주하여 배지를 제조하였으며, 대조구로서는 LB 배지를 사용하였다. 이때 LB 배지 및 각각의 역새즙액 배지에 1일 동안 전배양한 시험균주를 0.1% (V/V) 접종한 후 150 rpm에서 30시간 동안 진탕배양하면서 3시간 간격으로 660 nm에서의 흡광도를 측정하여 균체의 성장정도를 결정하였다.

또한 최적농도의 역새즙액 배지에서 이 균주의 최적 배양온도를 조사하기 위하여 각각 15, 20, 30, 35°C로 온도를 달리하여 균체를 배양하면서 배양시간별 성장속도를 조사하였다.

동일한 배지에서 최적 pH를 규명하기 위하여 배지의 초기 pH를 HCl 및 NaOH로 각각 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0로 맞추어 균체를 배양하면서 배양시간별 성장속도를 조사하였다.

역새즙액 배지에 대한 탄소원 및 질소원 첨가효과

G-74 균주에 대한 역새즙액 배지의 효과를 높이기 위하여 이 배지에 탄소원으로서 2.0% (W/V)의 glucose, sucrose, soluble starch, xylose, fructose, maltose, sorbitol, corn starch를 각각 첨가하여 균체의 성장속도를 조사하였다.

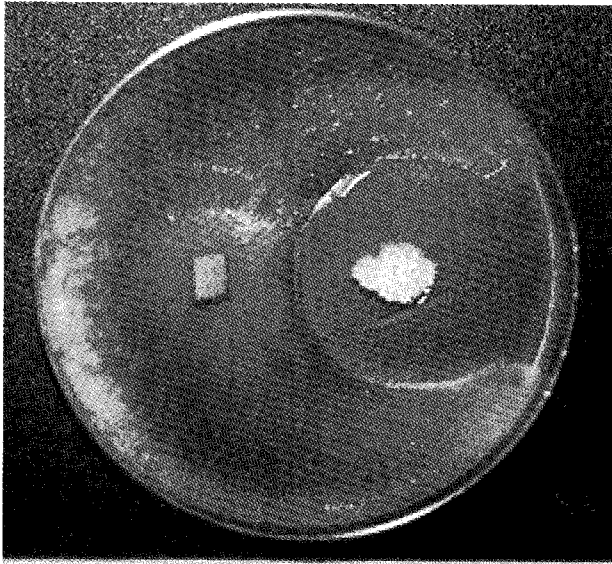
또한 상기의 방법으로 결정된 탄소원이 첨가된 역새즙액 배지에 질소원으로서 1.0% (W/V)의 yeast extract, tryptone, peptone, malt extract, potassium nitrate, ammonium sulfate, ammonium chloride, ammonium nitrate를 각각 첨가하여 균체의 성장속도를 조사함으로써 G-74 균체배양에 가장 효과적인 탄소원과 질소원을 결정하였다¹⁶.

결과 및 고찰

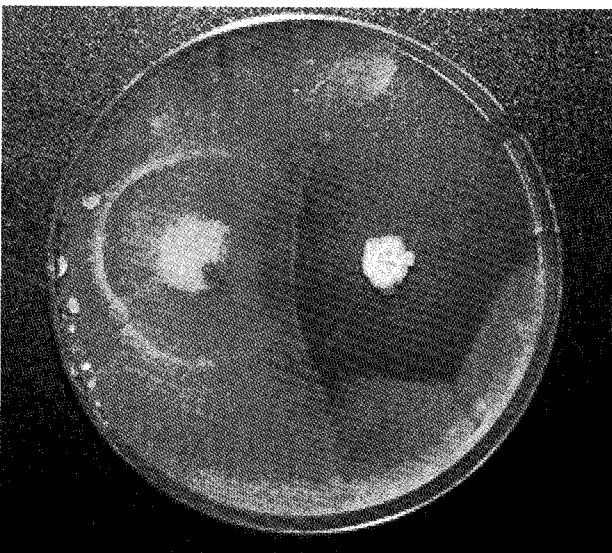
길항균의 분리동정

식물병원성균인 뿌리썩음병 원인균인 *R. solani*, 잿빛곰팡이병을 일으키는 *B. cinerea*에 대하여 우수한 항균효과를 보

이는 16종의 1차선발 균주 중에서 항균력이 가장 뛰어나고 동시에 균체 성장이 빠른 G-74 균주를 최종 선발하였다. 선발균주의 항균력 시험은 “재료 및 방법”에서 설명한 바와 같이 길항균과 식물병원성균을 PDA 배지에서 대치배양하여 길항균에 의한 식물병원성 곰팡이의 군사성장 억제의 정도로서 판단하였으며, 최종 선발균주가 식물병원성균들에 대하여 강력한 항균효과를 보임을 Fig. 1의 결과를 통하여 알 수 있었다.



(a)



(b)

Fig. 1. Dual culture of an antagonistic bacterium G-74 and two kinds of phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea*, showing an inhibitory effect of G-74 strain on the mycelial growth of fungi. (a) G-74 (right) vs *R. solani* (left), (b) G-74 (right) vs *B. cinerea* (left).

선발균주의 형태관찰 결과 Table 1에서 보여주는 바와 같이 이 균주는 Gram(+), rod type의 운동성을 가진 호기성균으로서 포자를 형성하였다. 또한 이 균주는 MIDI법에 의한 가스 크로마토그래피 분석 결과(Fig. 2), Similarity Index(SI)가 *B. lentimorbus*에 대하여 0.903으로 매우 높은 값을 보여주었다. 이상의 형태관찰 및 MIDI 분석에 의한 미생물 동정 결과는 분리균주가 *Bacillus lentimorbus* 균주라는 사실에 상호 잘 일치하기 때문에 *B. lentimorbus* G-74 균주로 최종 동정하였다. 한편 MIDI 분석에 의한 미생물 신속동정법은 미생물의 세포막 또는 세포벽에 존재하는 지방산이 종에 따라 다른 점에 착안하여 GC를 이용하여 지방산을 분석한 후 Sherlock software를 이용해 각 peak에 대한 정성, 정량 데이터를 얻고 library software에 들어있는 데이터와 비교 분석함으로써 미생물의 속과 종을 확실적으로 동정하는 원리를 이용하는 것이다¹¹⁾. 이 경우 확실적인 값인 SI가 0.5 이상일 경우 동정된 균주로 수락하며, 0.5 이상의 값이 여러 개 일 경우 가장 높은 값과 그 다음 높은 수치의 값 차이가 0.1 이상일 경우에만 신뢰성을 갖는 것으로 본다¹¹⁾.

역새즙액의 성분분석

본 연구에 사용된 역새는 국내 전 지역에서 자생하는 것으로서 경북 경산시, 진랑읍, 영천시 일대의 야산에서 채취하여 착즙하였다. 그 결과 5월부터 9월까지의 착즙이 가능하였으나, 10월초부터는 갈대의 수분함량이 적어서 착즙이 곤란하였다. 착즙기는 시간당 60 L의 착즙이 가능하였으며, 30~40%(W/W)의 갈대즙이 생산되고 나머지 60~70%의 찌꺼기가 발생하였다. 그리고 9월부터 후반기로 갈수록 착즙 수율이 급격히 감소하는 경향을 보였다. 한편 갈대즙의 생성시에 81℃까지 열이 발생하여 자동적으로 살균이 가능하였기 때문에 착즙한 시료를 냉장 보관하여도 2개월까지는 부패 없이 저장할 수 있었다. 또한 찌꺼기는 완전히 분쇄되고 수분함량이 60% 내외로 퇴비화에 적절하였기 때문에 단순 야적에 의하여 쉽게 발효되어 퇴비의 재활용이 가능하였다^{17,18)}.

역새즙액 성분을 ICP로 분석한 결과 Table 2의 결과에서 보여주는 바와 같이 여과전과 여과후에 상당한 차이를 보였다. 즉 P, Ca, K, Mg, Na는 그 함량이 증가하였으며 특히 K와 Mg는 각각 2.93, 2.20배씩 증가하였다. 그러나 N, Cu, Fe, Zn은

Table 1. Morphological characteristics of G-74 strain

Test	Characteristics
Gram stain	Positive
Morphology	Rods (0.7~1.0 × 2.0~2.5 μm)
Motility	Positive
Spore	Positive (0.6~0.9 × 1.0~1.5 μm)
Aerobic growth	Positive

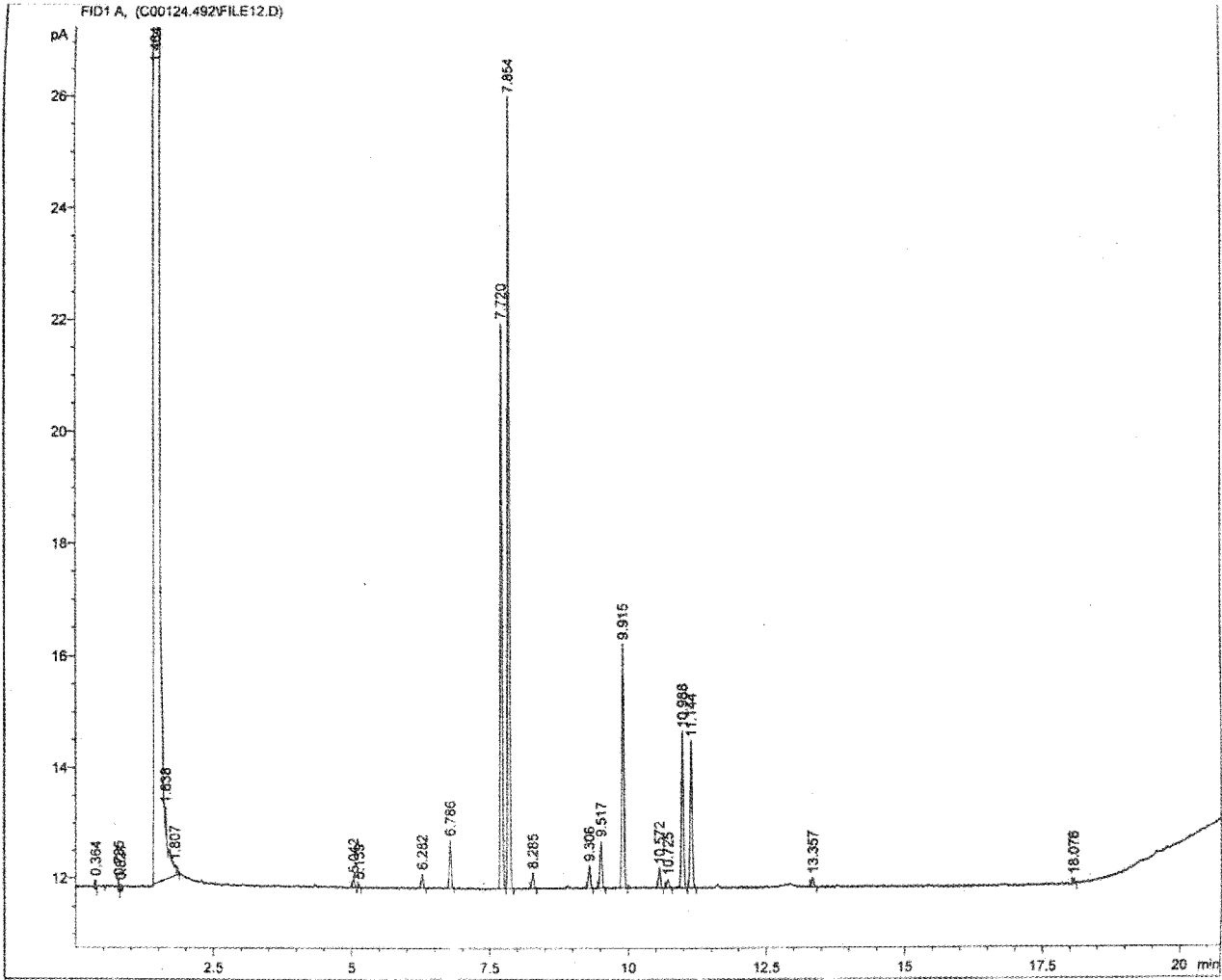


Fig. 2. Fatty acid compositions of cell membrane of G-74 strain as identified by gas chromatogram.

오히려 그 함량이 감소하였으며, Cu와 Zn은 무려 5.56, 3.42 배씩 감소하였다. 양적으로는 여과 후 K (37,952 mg/L), N (14,000 mg/L), P (6,800 mg/L), Mg (5,969 mg/L), Ca (5,910 mg/L) 순으로 많았으며 Na, Fe, Zn, Cu 등은 이들보다 10배 이상 적은 양으로 존재하였다. 그러나 이들 성분들은 채취시기 및 채취장소에 따라서는 큰 차이가 없었다. 일반적으로 역새의 경우 고품질의 성분을 조사했을 때 총량기준으로 lignin이 15.06%, 섬유질은 40% 이상으로 다른 야생식물보다는 이들 성분이 비교적 많이 함유되어 있으나 벼짚보다는 적은 편이다¹⁹⁾.

역새즙액 배지의 G-74 균체배양을 위한 최적농도

역새즙액의 농도가 길항균 *B. lentimorbus* G-74 균체의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 역새를 착즙 후 몇 단계의 여과과정을 거친 후 제조한 역새즙액 배지원액 및 이 원액을 10, 30, 50%(V/V)가 되도록 증류수로 각각 희석하여 제조한 배지를 100 mL 삼각플라스크에 30 mL씩 분주하였다.

Table 2. Content analysis of *Miscanthus purpurascens* juice

Element	Before filtration	After filtration
	mg/L	mg/L
K	12,949	37,952
N	18,300	14,000
P	3,600	6,800
Mg	2,719	5,969
Ca	4,871	5,910
Na	295	559
Fe	538	243
Zn	694	203
Cu	946	170

각각의 배지에 전배양한 G-74 균주 0.1%(V/V)를 접종하여 35°C에서 배양했을 때 Fig. 3과 같은 미생물 성장곡선을 얻

을 수 있었다. 이 결과에 의하면 역새즙액을 30%(V/V) 희석한 배지에서 이 균주의 성장이 가장 양호하였으며 대조구인 LB배지와 거의 유사한 균체성장을 보였다(Fig. 3). 이에 비해 역새즙액 원액배지는 30~50%로 희석한 배지보다 훨씬 유도가 길어졌으며 짧은 대수기를 거쳐 정체기로 진행하였다. 그 결과 30% 희석된 최적배지에 비해서 2배 이상 성장이 저하되었다.

본 연구와 같이 역새즙액을 이용한 균체배양은 본 연구팀이 최초로 보고하였지만 최근 농산부산물, 배추폐기물, 코코넛 폐수 등의 식물 유래 유기성 폐자원을 기질로 이용한 유용미생물의 배양에 대해서는 다수의 결과가 보고된 바 있다^{20,24}.

균체배양의 최적온도

배양온도가 균체의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 30%로 희석화된 배추즙액 희석배지에 배양온도를 각각 15, 20, 30, 35°C로 달리하여 균체의 성장속도를 조사하였다²⁵. 그 결과 저온이나 고온에서는 잘 성장하지 못하였으며 (Fig. 4), 일반 중온성 세균과 마찬가지로 35°C에서 균체의 성장이 가장 높았으므로 이 온도를 최적 배양온도로 결정하였다.

균체배양의 최적 초기 pH

배지의 초기 pH가 균체의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 30%로 희석한 배지의 초기 pH를 HCl 혹은 NaOH를 이용하여 각각 5.0~9.0 범위로 조정하여 배지를 제조하였다²⁶. 각각의 배지에 균체를 접종한 후 35°C에서 진탕배양하면서 3시간 간격으로 균체의 성장을 조사한 결과 Fig. 5에서 보여주는 바와 같이 pH 5.0에서 가장 양호한 성장을 나타내었다. 그러나 pH 8.0~9.0의 알칼리 배지에서는 최적 pH에 비해 성장이 2배 이상 저하되었다. 최적 pH인 5.0에서 배양할 경우 역

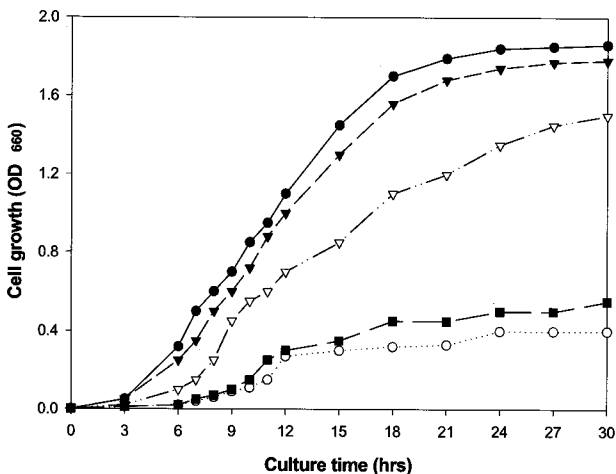


Fig. 3. Growth curve of *Bacillus lentimorbus* G-74 during the cultivation at various concentration of *M. purpurascens* juice medium. ●-●, LB medium; ○-○, 10% (V/V) diluted juice medium; ▼-▼, 30% diluted juice medium; ▽-▽, 50% diluted juice medium; ■-■, 100% juice medium.

새즙액 배지가 대조구인 LB 배지보다 성장이 양호하였다.

역새즙액 배지의 탄소원 첨가효과

위에서 결정한 최적 배양조건에서 glucose, sucrose, soluble starch, xylose, fructose, maltose, sorbitol, corn starch와 같은 탄소원을 각각 2.0% (W/V) 농도로 역새즙액 배지에 첨가했을 때 균체의 성장속도에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과, 탄소원의 종류에 따라 균체의 성장속도에 상당한 차이가 있었으며 특히 corn starch, soluble starch 등 다당류가 함유된 경우에 균체 성장이 크게 증가하여 OD₆₆₀이 거의 2.0에 도달하였다(Fig. 6). 이 결과는 대조구인 LB 배지에 비해 약 25% 성장이 더 좋음을 나타낸다. 이에 비해 단당류인 glucose,

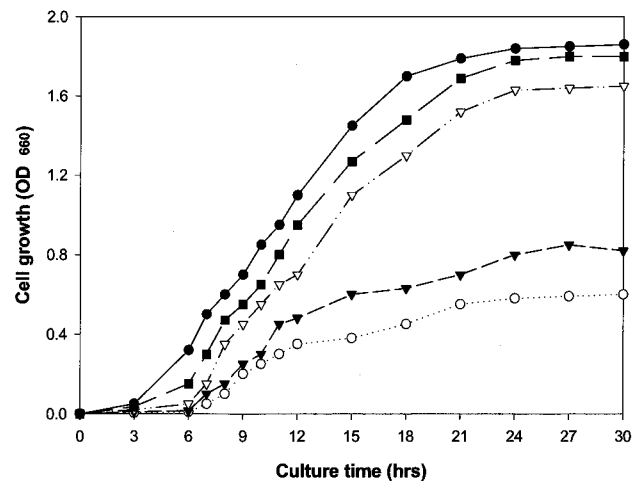


Fig. 4. Growth curve of *B. lentimorbus* G-74 during the cultivation at various temperatures in 30% (V/V) diluted *M. purpurascens* juice medium. ●-●, LB medium and 35°C; ○-○, 15°C; ▼-▼, 20°C; ▽-▽, 30°C; ■-■, 35°C.

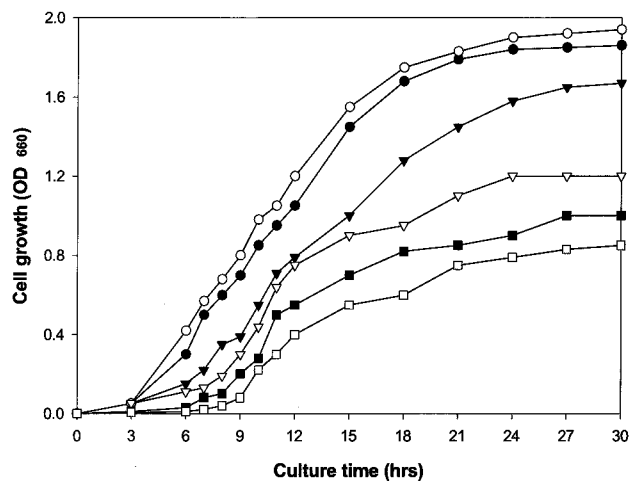


Fig. 5. Growth curve of *B. lentimorbus* G-74 during the cultivation at various initial pHs and 35°C in 30% (V/V) diluted *M. purpurascens* juice medium. ●-●, LB medium; ○-○, pH 5.0; ▼-▼, pH 6.0; ▽-▽, pH 7.0; ■-■, pH 8.0; □-□, pH 9.0.

fructose의 첨가는 오히려 무첨가구보다 균체의 성장이 낮아졌다. 이와 같이 다양한 탄소원의 첨가가 미생물 성장에 유의한 효과를 준다는 보고는 많이 있지만 각각의 탄소원이 어떤 대사경로에 관여하며, 어떻게 이용되는지 등의 균체성장 촉진과 관련된 보다 구체적인 해석을 위해서는 이에 대한 자세한 생리생화학적 연구가 필요할 것이다^{27,28)}.

역새즙액 배지의 질소원 첨가효과

위에서 결정한 최적 배양조건에 2.0%의 corn starch 탄소원을 첨가한 역새즙액 배지에 yeast extract, tryptone, peptone,

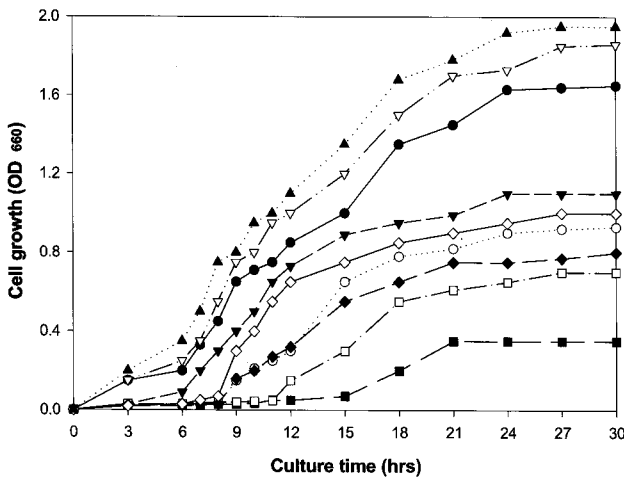


Fig. 6. Addition effect of 2.0% (W/V) carbon sources on the growth of *B. lentimorbus* G-74 at the optimized culture condition. ●-●, no addition; ○-○, glucose; ▼-▼, sucrose; ▽-▽, soluble starch; ■-■, xylose; □-□, fructose; ◆-◆, maltose; ◇-◇, sorbitol; ▲-▲, corn starch.

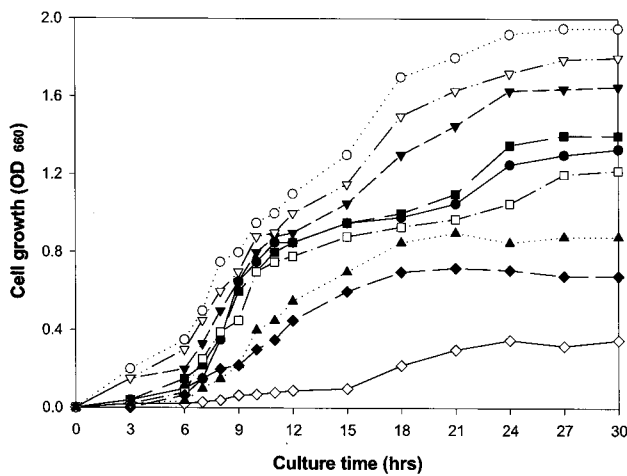


Fig. 7. Addition effect of 1.0% (W/V) nitrogen sources on the growth of *B. lentimorbus* G-74 at the optimized culture condition. ●-●, no addition; ○-○, yeast extract; ▼-▼, tryptone; ▽-▽, peptone; ■-■, malt extract; □-□, potassium nitrate; ◆-◆, ammonium sulfate; ◇-◇, ammonium chloride; ▲-▲, ammonium nitrate.

malt extract, potassium nitrate, ammonium sulfate, ammonium chloride, ammonium nitrate와 같은 질소원을 각각 1.0% (W/V) 첨가했을 때 이들이 균체 성장속도에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 ammonium chloride, ammonium sulfate 등 무기질소원보다는 yeast extract, peptone과 같은 유기질소원의 첨가가 균체 성장에 더 유리하였으며(Fig. 7), 이는 LB 배지에 비해 약 66% 성장이 더 좋음을 나타낸다. 이와 같은 현상은 Yun 등의 연구결과와 매우 유사하였다²⁹⁾.

감사의 글

본 연구는 2001년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과이며 연구비 지원에 대하여 감사드립니다.

요 약

역새즙액을 이용하여 유용한 미생물의 대량배양을 위한 새로운 배지를 개발하고자 본 연구를 수행하였다. 역새즙액의 성분을 조사한 결과 칼륨 (37,952 mg/L), 질소 (14,000 mg/L), 인산 (6,800 mg/L), 마그네슘 (5,969 mg/L), 칼슘 (5,910 mg/L) 등이 주성분을 차지하였다. 본 연구를 위하여 먼저 식물 병원성균인 뿌리썩음병 원인균인 *Rhizoctonia solani*, 잣빛곰팡이병을 일으키는 *Botrytis cinerea*에 대하여 강력한 저해 활성을 갖는 길항균 G-74를 토양으로부터 분리하였으며, 이 균의 형태관찰과 MIDI 분석을 통하여 *Bacillus lentimorbus* G-74 균주로 최종 동정하였다. 이 균의 역새즙액 배지에 대한 최적 배양조건을 조사한 결과 30% (V/V) 희석배지, 35°C 배양온도, 5.0의 초기 배지 pH에서 가장 좋은 성장을 기록하였다. 또한 이 배지에 탄소원으로서 2.0% (W/V)의 corn starch 및 질소원으로서 1.0% (W/V)의 yeast extract를 추가적으로 첨가하면 최상의 성장을 보여주었으며, 이 경우 대조구인 LB 배지보다도 균체성장이 66% 이상 증가하였다.

참고문헌

1. Hwang, B. K. (1985) Plant Medicine, Tamgu Publisher, Seoul, Korea.
2. Mandeel, Q. and Baker, R. (1993) Mechanisms involved in biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporium*, *Phytopathol.* 81, 462-469.
3. Paulitz, T. C., Park, S. and Baker, R. (1987) Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporium*, *Can. J. Microbiol.* 33, 349-353.
4. Sutton, J. C. and Peng, G. (1993) Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves, *Phytopathol.* 83, 615-621.

5. Burpee, L. L. and Goult, L. G. (1984) Evaluations of fungicides for control of pink and gray snow mold on creeping bentgrass, In R. W. Sheard (ed). Turfgrass Research Annual Report, Univ. of Guelph, Canada, p.6-7.
6. Omura, S., Tomoda, H., Kimura, K., Zhen, D. -Z, Kumagai, H., Igarashi, K., Imamura, N., Takahashi, Y., Tanaka, Y. and Iwai, Y. (1988) Atpenins, new antifungal antibiotics produced by *Penicillium* sp. (production, isolation, physico-chemical and biological properties), *J. Antibiot.* 41, 1769-1773.
7. Yoshie, Y., Katsushige, I., Yoshihisa, U., Atsuko, O., Kazutoh, T., Ikonoshin, K. and Hiroshin, N. (1993) Isolation, structures, and antifungal activities of new Aureobasidins, *J. Antibiot.* 46, 1347-1354.
8. Baker, R. (1968) Mechanisms of biological control of soil-born plant pathogens, *Ann. Rev. Phytopathol.* 6, 263-294.
9. Lewandowski, I., Clifton-Brown, J. C., Scurlock, J. M. O. and Huisman, W. (2000) *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop, *Biomass Bioenerg.* 19, 209-227.
10. Greef, J. M. and Deuter, M. (1993) Syntaxonomy of *Miscanthus giganteus* Greef et. Deu, *Angewandte Botanik.* 67, 87-90.
11. Cho, M. K. (2000) Screening of competent intestinal microorganisms in poultry for the development of probiotics. MS. thesis, Chungbuk National University, Cheongju, Korea.
12. Kim, C. H., Kim, T. J. and Hong, S. I. (1990) The medium optimization through continuous culture of an methanol utilizing bacterium for SCP production, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 5, 355-363.
13. Pridham, T. G., Hall, H. H. and Jackson, R. W. (1965) Effect of antimicrobial agents on the milky disease bacteria *Bacillus popilliae* and *Bacillus lentimorbus*, *Appl. Microbiol.* 13, 1000-1004.
14. Assoc. of Korea Food Industrial (1991) Food Industrial Dictionary: Minerals, Hanil Publisher, Seoul, Korea, p.853-858.
15. Kang, M. R., Lee, I. H., Jun, H., Kim, Y. S. and Kim, S. C. (2001) Elemental analysis in *Astragali radix* by using ICP-AES and determination of the original agricultural place of oriental medicine by using a chemometrics, *Kor. Anal. Sci. Technol.* 14, 316-321.
16. Lee, J. S., Park, S. and Park, G. S. (1989) Optimization of media composition and cultivation for the mycelial growth of *Agrocybe cylindracea*, *Kor. J. Food Sci. Technol.* 21, 399-403.
17. Son, J. Y. (1993) Animal waste treatment and utilization, *J. Bio. Fac. Eng.* 2, 150-160.
18. Lee, Y., Joo, W. H. and Seo, J. Y. (1995) Decentralized composting of garbage in a small composter for dwelling house, *Kor. J. Environ. Agric.* 14, 345-350.
19. Sung, N. K., Yon, H. D., Shim, K. H. and Lee, C. S. (1977) Studies on the fermentative utilization of cellulosic wastes; culture of cellulolytic bacteria from *Miscanthus*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 5, 127-131.
20. Bae, M., Lee, K. J. and Kho, Y. H. (1977) Studies on microbial utilization of agricultural wastes, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 5, 119-125.
21. Dorta, B., Bosch A., Arcas, J. A. and Ertola, R. J. (1990) High level of sporulation of *Metarhizium anisopliae* in a medium containing by-products, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33, 712-715.
22. Ha, Y. M. (1989) Culture conditions of *Scenedesmus dimorphus* in waste water from the biodegradation of cabbages, MS. thesis, Inha University, Incheon, Korea.
23. Lee, N. S. and Kyung, K. H. (1992) Production of *Candida utilis* biomass on Chinese cabbage juice, *Korean J. Food Sci. Technol.* 24, 221-225.
24. Moorthy, V. K. and Mohanan, R. C. (1991) Mass production of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* in coconut water wasted from copra making industry, *J. Plantation Crop.* 19, 54-69.
25. Paik, H. D., Lee, S. H., Hwang, S. K. and Oh, Y. J. (1988) Optimization of media composition and cultural conditions for δ -endotoxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 16, 11-16.
26. Moon, K. H., Kim, P. H., Yoon, J. W., Sung, J. M. and Kim, S. W. (1997) Optimization of production medium for mass culture of *Beauveria* sp. C208, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25, 606-611.
27. Park, K. S. and Lee, J. S. (1991) Optimization of media composition and culture conditions for the mycelial growth of *Coriolus versicolor* and *Lentinus edodes*, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 6, 91-98.
28. Yun, J. W., Kang, S. C. and Song, S. G. (1996) Microbial transformation on fructose to mannitol by *Lactobacillus* sp. KY-107, *Biotechnol. Lett.* 18, 35-40.
29. Yun, J. W., Kang, S. C. and Song, S. G. (1996) Effect of nitrogen sources on the production of polyols by *Aureobasidium pullulans*, *J. Microbiol. Biotechnol.* 6, 60-62.